

# ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ И СОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ПРОТЕАЗЫ CANDIDA ALBICANS КАК ПАРАМЕТРЫ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ СИСТЕМНЫХ МИКОЗОВ

Иванова А.А., Кутырева М.П.

Казанский государственный университет

Патогенность аллергена *Candida albicans* (*C. alb.*) связана с количеством и многообразием функций вырабатываемых им секреторных аспарагиновых протеаз *C. alb.* В данной работе предложен алгоритм диагностики и прогнозирования системных микозов на основе комплексной оценки ферментативных и сорбционных свойств конститутивных секреторных аспарагиновых протеаз *C. alb.* В исследовании использованы ферменты трех штаммов *C. alb.*: музейного ( $SAP_M$ ), чувствительного к препарату «Флуконазол» ( $SAP_{ч.ф.}$ ) и устойчивого к препарату «Флуконазол» ( $SAP_{у.ф.}$ ). Субстрат – человеческий сывороточный альбумин (ЧСА). Исходные концентрации ферментов определены вольтамперометрически с использованием биосенсора на основе иммобилизованной холинэстеразы. Ферментативная активность оценена методом спектрофотометрии. Величины максимальной сорбции  $SAP_M$ ,  $SAP_{ч.ф.}$ , и  $SAP_{у.ф.}$  на нитроцеллюлозной мембране (НЦ) и хемосорбции на нитроцеллюлозной мембране с включенным ЧСА (НЦ+ЧСА) представлены в таблице. Время сорбции = 40 мин.

Вид графиков в координатах Скэтчарда указывает, что взаимодействие с ЧСА конститутивных протеаз  $SAP_M$  и  $SAP_{ч.ф.}$  протекает по одному участку, в то время как во взаимодействии  $SAP_{у.ф.}$  с субстратом участвуют два специфических участка. Константы аффинности составили:  $[SAP_M - ЧСА] K_A = (12,86 \pm 0,01) \times 10^9$  моль<sup>-1</sup>;  $[SAP_{ч.ф.} - ЧСА] K_A = (19,78 \pm 0,05) \times 10^{10}$  моль<sup>-1</sup>;  $[SAP_{у.ф.} - ЧСА] K_A^I = (13,35 \pm 0,05) \times 10^{11}$  моль<sup>-1</sup>;  $K_A^{II} = (3,26 \pm 0,07) \times 10^{10}$  моль<sup>-1</sup>.

Фермент	C <sub>исх</sub> , моль/л	Максимальная ферментативная активность, мг/мл×ч	pH	Сорбция, моль/м <sup>2</sup>	
				НЦ	НЦ+ЧСА
$SAP_M$	$5.95 \cdot 10^{-9}$	1.73	4.0	2.56	12.4
$SAP_{ч.ф.}$	$1.71 \cdot 10^{-11}$	1.33	4.5	0.415	0.45
$SAP_{у.ф.}$	$1.98 \cdot 10^{-9}$	1.36	6.0	3.14	15.8

Разработана модель адгезии клеток патогенных штаммов *C. alb.* с различной чувствительностью к антимикотическому препарату «Флуконазол». По результатам эксперимента *C. alb.* адгезия зависит от степени чувствительности используемых в эксперименте штаммов и возрастает с увеличением устойчивости штамма *C. alb.*

Полученные данные имеют практическое значение для контроля содержания конститутивных протеаз *C. alb.* патогенных штаммов, в том

числе и прошедших обработку фармпрепаратами, а, следовательно, для диагностики и прогнозирования микотических осложнений.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОДНОЙ АКТИВНОСТИ МЕМБРАН НА ОСНОВЕ НИОБАТОВ КАДМИЯ

*Гончаревич А.В., Докутович В.Н., Соколова Е.В., Подкорытов А.Л.*

Уральский государственный университет, Екатеринбург

Кадмий, свинец и ртуть относятся к суперэкоотоксикантам и их предельно допустимые концентрации (ПДК) малы, поэтому необходимы избирательные и высокочувствительные методы определения этих элементов. Одним из точных, экспрессных и чувствительных методов анализа является ионметрия. Поэтому целью настоящей работы явилось создание и электрохимическая аттестация Cd-СЭ на основе сложнookсидных материалов.

В качестве электродноактивных компонентов мембран ИСЭ выбраны твердые растворы стронция-кадмия  $(\text{Sr}_{0,7}\text{Cd}_{0,3})_2\text{Nb}_2\text{O}_7$  и  $(\text{Sr}_{0,9}\text{Cd}_{0,1})_2\text{Nb}_2\text{O}_7$ . Твердофазный синтез данных веществ проведен по стандартной керамической технологии. Однофазность исследуемых ниобатов подтверждена рентгенографически.

Для исследования электродной активности изготовлены пленочные ИСЭ с твердым контактом (инертная матрица – полистирол). Массовая доля электродноактивного вещества в мембране составила не менее 70%. При электрохимической аттестации изучены закономерности отклика электродов на изменение концентрации ионов кадмия (II) и определены основные электрохимические характеристики Cd-СЭ.

Сравнение электрохимических параметров сконструированных ИСЭ показало предпочтительность использования твердого раствора  $(\text{Sr}_{0,7}\text{Cd}_{0,3})_2\text{Nb}_2\text{O}_7$  в качестве активного вещества мембраны. Время отклика этого электрода не превышает 5 минут, интервал линейности основной электродной функции составляет  $10^{-3} - 10^{-1}$  моль/л. Крутизна электродной функции близка к теоретическому значению для двухзарядных ионов.

Cd-СЭ с мембраной на основе  $(\text{Sr}_{0,7}\text{Cd}_{0,3})_2\text{Nb}_2\text{O}_7$  испытан в качестве индикаторного в методе потенциометрического титрования. В качестве титранта использовали стандартный раствор ЭДТА.

*Работа выполнена при поддержке гранта CRDF № EK-005-X1, гранта МК-3529.2005.3 и гранта BRHE 2006 post-doctoral fellowship award Y3-C-05-17.*